УДК 619:616.9-07:636.2

Дубовой Б.Л., Коваленко А.В., Корсунов А.В.
(ГНУ СКЗНИВИ Россельхозакадемии)

ЛАБОРАТОРНАЯ АЛЛЕРГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ТУБЕРКУЛЁЗА МЕТОДОМ IN VITRO РЕАКЦИЕЙ СПЕЦИФИЧЕСКОГО ЛИЗИСА ЛЕЙКОЦИТОВ

Ключевые слова: туберкулёз КРС, аллергическая диагностика: методы in vivo, туберкулинизация, микобактерии, БЦЖ, дифференциация туберкулиновых проб, лабораторная аллергическая диагностика, метод in vitro РСЛЛ.

Одним из ведущих племенным заводом по разведению скота калмыцкой породы в России является ОАО «Племенной конный завод «Зимовниковский». В хозяйстве поголовье скота калмыцкой породы на начало года поддерживается на уровне 6200 голов, в том числе 2550 коров и нетелей с ежегодным получением 2200-2300 телят. При плановых аллергических исследованиях КРС для дифференциации специфических и неспецифических реакций для уточнения диагноза на туберкулёз нами предложено применять реакцию специфического лизиса лейкоцитов (П. № 2366454), что позволяет предотвратить необоснованный убой здоровых животных, давших положительную реакцию на внутрикожное введение туберкулина.

Вместе с этим в доступной литературе пока нет работ по изучению сравнительной эффективности внутрикожной туберкулиновой пробы, применяемой методом in vivo, и метода in vitro реакцией специфического лизиса лейкоцитов (РСЛЛ) с каплей антикоагулянтной крови животного, давшего положительную туберкулиновую пробу. Не найдены специальные указания, в каких случаях целесообразно использовать для диагностики туберкулёза метод in vitro. Отсутствуют методические подходы по изучению диагностической эффективности метода in vitro в условиях эксперимента и животноводческих хозяйств молочного направления, которые были бы достаточно чувствительными, специфичными и точными.

Аллергическая диагностика туберкулёза in vivo (внутрикожная, глазная, пальпебральная, внутривенная туберкулиновые пробы), как показывают плановые диагностические массовые исследования в благополучных хозяйствах, во многих случаях не может быть использована для установления этиологии при проявлении неспецифических внутрикожных туберкулиновых проб, для обнаружения конкретных причин – аллергенов, вызывающих развитие ложноположительной сенсибилизации на туберкулин, так как она обусловлена многими антигенами.

Наши экспериментальные работы по моделированию туберкулёзного процесса микобактериями БЦЖ и выполненные исследования в базовых хозяйствах Ростовской области в 2009-2011 годах показывают, что отмеченные недостатки туберкулинизации устраняются лабораторной аллергической диагностикой туберкулёза in vitro РСЛЛ с каплей антикоагулянтной крови исследуемого животного, давшего положительную туберкулиновую пробу. Оказалось, что метод in vitro помогает установить неспецифическую туберкулиновую реакцию и её этиологию при наличии набора аллергенов-диагностикумов, а так же характер и степень изменённой реактивности иммунной системы.

Выполненные исследования (2009-2010 г.г.) убеждают, что задачами лабораторной аллергической диагностики методом in vitro могут явиться:

1. Установление сенсибилизации к аллергенам – ППД-туберкулинам: для млекопитающих, для птиц, КАМ и другим в отдельности к каждому (специфическая диагностика).

2. Определение типа аллергической реакции: а) тип иммунологического феномена ГЧЗТ клеточного иммунитета (выявление аллерген-специфических лимфоцитов к специфическому диагностикуму, приготовленному из микобактерий), б) тип изменённой реактивности иммунной системы, обусловленной наличием аллерген-специфических антител немикобактериальной этиологии (бруцеллёз, миксоматоз и некоторые другие инфекционные болезни).

Из вышеизложенного следует, что установление сенсибилизации к конкретным аллергенам и типа аллергической ре-

акции является целью лабораторной специфической аллергической диагностики in vitro.

Поэтому лабораторная аллергическая (специфическая) диагностика должна использоваться во всех случаях, когда диагностика in vivo внутрикожной туберкулиновой пробой не даёт ответа:

1. В случаях необходимости дифференциальной диагностики специфических и неспецифических туберкулиновых проб. Например, положительных или ложноположительных; отрицательных или ложноотрицательных реакций, полученных при внутрикожном введении туберкулина.

2. При наличии противопоказаний к проведению внутрикожных проб (стригущий лишай, другие микозы, гиподерматоз, смешанные и ассоциативные вирусные и вирусо-бактериальные инфекции, большинство инфекционных и инвазионных болезней).

3. При выявлении скрытой (субклинической) сенсибилизации к химическим, физическим и биологическим веществам и климатическим и техногенным факторам.

4. Для подтверждения наличия сенсибилизации к предполагаемому или конкретным аллергенам.

5. Для выявления сенсибилизации, вызванной смешанной инфекцией или инвазией.

Для более объективной оценки аллергической лабораторной диагностики туберкулёза методом in vitro в реакции специфического лизиса лейкоцитов необходима более обширная информация из хозяйств по дифференциации реакций.

Предполагаемый способ дифференциации отличается тем, что в благополучных хозяйствах от реагирующих на туберкулин животных берут кровь для исследования РСЛЛ с аллергенами: ППД-туберкулинам для млекопитающих, для птиц, КАМ, а затем дополнительно исследуют офтальмо- или внутривенной туберкулиновой пробой и проводят комиссионный диагностический убой. У убитых животных берут материал для бактериологического исследования с постановкой биопробы.

При оздоровлении стад от реагирующих на туберкулин животных берут кровь для исследования РСЛЛ и повторно исследуют кровь через 30-45 дней перед постановкой симультанной аллергической пробы в РСЛЛ с применением туберкулинов для млекопитающих, птиц и КАМ. После симультанной пробы животных подвергают комиссионному диагностическому убою и берут материал для бактериологического исследования с постановкой биопробы.

При дифференциации туберкулиновых реакций учитывают особенности эпизоотической ситуации хозяйства, района, области; определяют клинико-физиологическое состояние животных, их упитанность и продуктивность; используют результаты ветеринарно-санитарной экспертизы на мясоперерабатывающих предприятиях, внутрихозяйственного убоя и патологоанатомический диагноз при вскрытии трупов; выявляют туберкулёз, эхинококкоз, гельминтозы, эндометриты, маститы и другие инфекционные и незаразные болезни, которые, возможно, способствовали, предрасположили или явились причиной появления неспецифических туберкулиновых реакций и локализации патологических процессов в органах и тканях.

Результаты туберкулинизации, офтальмо-и внутривенной туберкулиновых проб, симультанной пробы, комиссионного контрольно-диагностического убоя реагирующих на туберкулин животных, лабораторных исследований и биологической пробы сопоставляют с показателями РСЛЛ. Определяют соответствие положительных реакций на туберкулин для млекопитающих, для птиц и КАМ: офтальмо- и внутривенных туберкулиновых проб; патологоанатомических изменений органов и тканей животных, результатов бактериологических исследований материала и биопробы с показателями РСЛЛ. На основании анализа статистически сгруппированного материала делают заключение об диагностической эффективности аллергической лабораторной диагностики методом in vitro в реакции специфического лизиса лейкоцитов (РСЛЛ) с каплей антикоагулянтной крови животных, прореагировавших на туберкулин в благополучных хозяйствах.

Выводы.

1. Реакция специфического лизиса лейкоцитов считается положительной, если она проявляется совместно с внутрикожной пробой ППД-туберкулина для млекопитающих, подтверждается патологоанатомическими изменениями, характерными для туберкулёза или результатами положительной биологической пробы на лабораторных животных.

2. Внутрикожная туберкулиновая проба выявления сенсибилизации характеризует групповую реакцию иммунного нарушения всего организма животного, поэ-

тому не может служить единственным доказательством того, что именно микобактерии туберкулёза являются этиологическим агентом положительных туберкулиновых реакций и заболевания туберкулёзом.

3. Дифференциальная диагностика туберкулиновых проб лабораторным аллергическим методом in vitro выявляет только состояние сенсибилизации организма на конкретный аллерген, т.е. свидетельствует об изменённой реактивности иммунной системы животного на конкретный ППД-туберкулин для млекопитающих, для птиц, КАМ или другой аллерген, вызвавший сенсибилизацию.

Резюме: В благополучных хозяйствах нередко проявляются неспецифические внутрикожные туберкулиновые пробы неустановленной этиологии. Установление конкретных причин – аллергенов, вызвавших неспецифические реакции на туберкулин, достигается лабораторной аллергической диагностикой туберкулёза in vitro РСЛЛ.
Лабораторная аллергическая диагностика туберкулёза КРС показана в случае дифференциальной диагностики специфических и неспецифических туберкулиновых проб, противопоказаний к проведению внутрикожных инъекций, скрытой (субклинической) сенсибилизации, выявления и подтверждения наличия сенсибилизации к аллергенам немикобактериальной этиологии.

SUMMARY
In safe economy are quite often shown nonspecific intracutaneous tuberculin's tests of an unstated etiology. The establishment of the concrete reasons – the allergens which have caused nonspecific reactions on tuberculin, is reached by laboratory allergic diagnostics of tuberculosis in vitro RSLL.
Laboratory allergic diagnostics of tuberculosis Horned cattle is shown in case of differential diagnostics specific and nonspecific tuberculin's tests, contra-indications to carrying out of the intracutaneous injections, the latent (subclinical) sensitization, revealing and acknowledgement of presence of a sensitization to allergens немикобактериальной to an etiology.

Keywords: tuberculosis Horned cattle, allergic diagnostics: methods in vivo, tuberculinisatio, mycobacterium, the Bacillus Calmette - Guerin, differentiation tuberculin's tests, laboratory allergic diagnostics, a method in vitro RSLL.

Литература

1. Дубовой, Б.Л. Методы определения сенсибилизации организма животных /Б.Л. Дубовой, А.Я. Кулик, А.В. Гуркин/ Методические рекомендации. Новочеркасск-1987. –С.32.
2. Дубовой, Б.Л. Новое в дифференциальной диагностике туберкулёза сельскохозяйственных животных /Б.Л. Дубовой, О.Н. Соловьёва, Н.В. Улько// Сборник научных трудов «Диагностика, профилактика и лечение при инфекционных болезнях сельскохозяйственных животных».- Персиановский, 2000.-С.8-12.
3. Дубовой, Б.Л. Способ ранней диагностики туберкулёза животных / Б.Л. Дубовой, О.Н. Полякова, А.И. Клименко, А.В. Коваленко, Л.П. Миронова// Изобретения. Полезные модели. Официальный бюллетень № 25, 2009.-С.2.
4. Полякова, О.Н. Дифференциальная диагностика внутрикожных реакций на ППД-туберкулин для млекопитающих (туберкулин для млекопитающих) у коров /О.Н. Полякова, Б.Л. Дубовой, В.В. Мосейчук// Материалы Международной научно-практической конференции «Интеграция науки, образования, продовольственной безопасности Российской федерации» - Персиановский.-Т.№3, 2010.-С.177-180.

Контактная информации об авторах для переписки
Б.Л. Дубовой, А.В. Коваленко, А.В. Корсунов
346421, г.Новочеркасск, Ростовское шоссе, СКЗНИВИ. www.skznivi.ru